

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

1/5/1

DIALOG(R) File 351: Derwent WPI
(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

004119758

WPI Acc No: 1984-265299/198443

XRAM Acc No: C84-112223

XRPX Acc No: N84-198192

Increasing anthocyanin content of fruit and plants - by exposure to blue and red light

Patent Assignee: GTE LAB INC (SYLV)

Inventor: KADKADE P G

Number of Countries: 004 Number of Patents: 004

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
FR 2542567	A	19840921	FR 844044	A	19840316	198443 B
JP 59179017	A	19841011	JP 8449388	A	19840316	198447
DE 3409796	A	19841129	DE 3409796	A	19840316	198449
CA 1243237	A	19881018				198846

Priority Applications (No Type Date): US 83476080 A 19830317

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
FR 2542567	A		29		

Abstract (Basic): FR 2542567 A

Specifically the fruits and plants treated are apples, such as Red Delicious and MACINTOSH, grapes such as Emperor, blueberries such as Vaccinium macrocarpon AIT, and poinsettias such as Euphorbia pulcherrima V-14.

The fruits and plants are pref. exposed to the blue and red light of high intensity discharge lamps or fluorescent lamps for 1-4 hrs. daily at night for up to 40 days before harvesting. The lamps have an intensity of 1-200 milli watts/sq.cm. and the emissions have peaks at 448 nm for the blue light and 660 nm for the red light. In an alternative process, apples that have been picked are stored in the cold and exposed to red light continuously for 4 days.

USE/ADVANTAGE - Increased colouration due to anthocyanin increases the commercial value of fruits and ornamental plants. This process causes no undesirable side effects, unlike chemical means for achieving the same object.

Title Terms: INCREASE; ANTHOCYANIN; CONTENT; FRUIT; PLANT; EXPOSE; BLUE; RED; LIGHT

Derwent Class: C03; D13; P13

International Patent Class (Additional): A01G-007/06; A01H-003/02;

A01N-003/00; A23B-007/00; A23L-001/02; A23N-015/06

File Segment: CPI; EngPI

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

11 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 542 567

21 N° d'enregistrement national : 84 04044

51 Int Cl³ : A 01 G 7/06; A 01 N 3/00; A 23 N 15/06.

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 16 mars 1984.

30 Priorité : US, 17 mars 1983, n° 476.080.

43 Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 38 du 21 septembre 1984.

60 Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

71 Demandeur(s) : GTE LABORATORIES INCORPORATED.
— US.

72 Inventeur(s) : Prakash G. Kadkade.

73 Titulaire(s) :

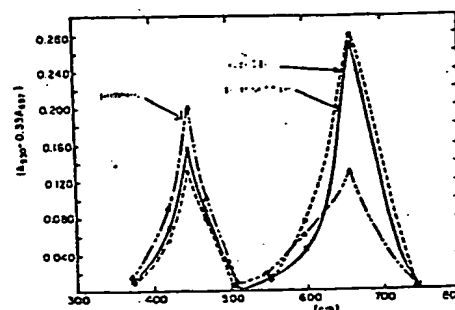
74 Mandataire(s) : Tandage.

54 Traitement par éclairage spécifique pour la formation d'anthocyane dans les plantes économiquement importantes.

57 L'invention concerne un procédé pour favoriser la formation de l'anthocyane dans un produit choisi dans le groupe comprenant les fruits et les plantes. Selon l'invention, on expose le produit à un traitement combiné de lumière bleue et de lumière rouge. Le produit est choisi dans le groupe comprenant les pommes, les raisins, les airelles et les poinsettias, et plus particulièrement, les pommes *Red Delicious*, les pommes *McIntosh*, *Malus domestica*, les raisins *Emperor*, les airelles *Vaccinium macrocarpon* ALT, et les poinsettias *Euphorbia pulcherrima* V-14.

Le produit est traité par rupture de la nuit pendant un nombre de jours déterminé avant la récolte, par exemple 40 jours.

Le traitement est effectué au moyen de lampes choisies dans le groupe des lampes à décharge à haute intensité et les lampes fluorescentes, avec une intensité de 1 à 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ pendant un temps compris entre 1 et 4 heures par jour.



FR 2 542 567 - A1

TRAITEMENT PAR ECLAIRAGE SPECIFIQUE
POUR LA FORMATION D'ANTHOCYANE
DANS LES PLANTES ECONOMIQUEMENT IMPORTANTES

La présente invention concerne le traitement par éclairage spécifique permettant d'améliorer la formation d'anthocyané dans les plantes fruitières et ornementales présentant une importance économique, sans affecter les autres caractéristiques de qualité du produit ni le développement et la croissance des
05 plantes. La présente invention a pour objet général de nouveaux procédés de ce type.

Les anthocyanes sont des pigments solubles dans l'eau qui sont responsables des couleurs attrayantes des fleurs, feuilles et fruits. Outre leur rôle biologique, elles sont importantes esthétiquement et économiquement, car leur
10 formation et leur stabilité sont essentielles pour la vente des plantes.

Jusqu'à présent, on améliore la couleur rouge dans les produits agricoles poussant dans les champs ou en serre, en vaporisant ou en traitant les plants et/ou des parties spécifiques de plants au moyen de régulateurs chimiques. Quelques fois, on ^{et} utilise des procédés de sélection génétique et de
15 reproduction pour améliorer la couleur.

Les régulateurs chimiques qui sont utilisés par les horticulteurs pour un développement opportun de la couleur rouge de certaines plantes fruitières et ornementales, tendent à avoir des effets secondaires non souhaitables (défoliation, réduction de la durée du stockage, inhibition des racines,
20 etc...) et souvent des résultats non-constants. Les procédés de sélection génétique et de sélection demandent beaucoup de travail et de temps.

On sait que la synthèse de l'anthocyane dans une grande partie des tissus et des plantes est favorisée par la lumière. Cette action est obtenue à travers au moins deux réactions photochimiques: 1) à bas niveau énergétique, une réaction commandée photochrome réversible rouge/rouge profond, et 2) une réaction d'irradiation élevée plus effective dans la région du bleu et du rouge profond du spectre de la lumière visible. On a étudié et interprété cette réaction d'irradiation élevée de l'accumulation d'anthocyane en termes de phytochimie ou d'un autre photorécepteur encore inconnu.

La présente invention a pour objet d'améliorer la formation d'anthocyane dans les plantes fruitières ou ornementales sans causer d'effets indésirables.

Le développement en temps opportun de la couleur rouge dans certaines plantes fruitières ou ornementales ayant un poids économique important dans la production et la commercialisation des produits horticoles. Il y a de nombreux facteurs qui affectent la formation de l'anthocyane, l'un d'eux étant l'influence de la lumière. On a étudié cette influence de la lumière sur les plantes ornementales et sur les plantes fruitières par divers moyens. Par exemple, on a exposé toutes les pommes et/ou airelles mures vertes en stockage normal au froid à un traitement combiné de lumière bleue ($0,82 \text{ mW/cm}^2$) et de lumière rouge ($0,30 \text{ mW/cm}^2$) présentant des crêtes d'émission à 448 nm et 660 nm environ respectivement, à différents moments. Les résultats obtenus montrèrent une amélioration sensible de la formation de l'anthocyane (46% en moyenne en plus qu'avec un traitement à la lumière rouge ou à la lumière bleue uniquement). De même, la formation de l'anthocyane dans la peau des pommes mûres par irradiation après récolte avec une lumière rouge et une lumière bleue à 10°C , fut sensiblement améliorée (35% en moyenne en plus par rapport aux groupes de contrôle non soumis à la lumière).

Selon l'invention, la formation de l'anthocyane dans les fruits et les plantes peut être améliorée en soumettant la plante à un traitement combiné de lumière bleue et de lumière rouge.

Les plantes peuvent être exposées jusqu'à 40 jours avant la récolte, à ces lampes fluorescentes à bande étroite dites VHO et/ou à des lampes à décharge à haute intensité, dans une gamme comprise entre 1 et 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ par périodes de 1 à 4 heures par jour. les pommes avant récolte sont, de préférence, exposées à la lumière bleue et à la lumière rouge, tandis que les poinsettias ne doivent être exposées qu'à la lumière rouge seulement. Après la récolte, les pommes stockées au froid peuvent continuer à être exposées à une lumière rouge ou à une lumière rouge et à une lumière bleue pendant une période de 4 jours.

L'invention sera mieux comprise, et d'autres buts, avantages et caractéristiques de celle-ci apparaîtront plus clairement à la lecture de la description qui suit de modes de réalisation donnés à titre non limitatif et à laquelle deux planches de dessins sont annexées.

La Figure 1 représente le spectre actif pour la formation de l'anthocyane selon les plantes choisies pour lesquelles les disques ont été incubés dans une sucrose à 0,1 mole et sous une lumière de plusieurs longueurs d'onde.

La Figure 2 est un tableau illustrant l'effet de l'intensité lumineuse dans la formation de l'anthocyane pour des airelles (C) et pour des pommes (A).

La Figure 3 est un tableau illustrant les effets de l'intensité lumineuse dans la formation de l'anthocyane pour la feuille de poinsettie.

La Figure 4 est le diagramme de la synthèse de l'anthocyane dans la feuille de poinsettie en fonction du temps, et

La Figure 5 représente un diagramme identique pour la pomme.

On a montré, par des expériences aussi bien sur diverses plantes qu'in vitro, que le développement de la couleur rouge peut être amélioré par exposition à la lumière.

Etudes de Laboratoire

1- Introduction

L'étude de la formation de l'anthocyane a été entreprise in vitro sur certains types de plantes telles que l'airelle, la pomme et le poinsettia, de façon à
05 rechercher:

- a) les effets relatifs des différentes régions du spectre et des différents niveaux de rayonnement;
- b) les relations de réversibilité et de réciprocité rouge/rouge profond, et
- c) l'implication de phytochrome et la contribution probable de la photosynthèse
10 en réponse à une réaction d'irradiation élevée en lumière rouge.

2- Les plantes et la méthode

Les plantes incluaient des airelles *Vaccinium macrocarpon* AIT (obtenues de Ocean Spray Company, Middleboro, Mass., EUA), des poinsettias *Euphorbia pulcherrima* V-14 (obtenues de Ecke Nurseries, Encinitas, Ca., EUA) et des pommes
15 "McIntosh" *Malus domestica* (obtenues de l'University of Massachusetts Horticultural Research Center, Belchertown, Ma et de Standard Orchards, Hudson, Ma, EUA). Dans la plupart des cas, la peau des pommes et les feuilles de poinsettias utilisées dans un but expérimental, ont été découpées en forme de disques de 0,5 cm de diamètre) au moyen d'un piston à ressort. Les disques de
20 chaque groupe furent mis dans 0,1% HCl dans le méthanol, puis immédiatement gelés à l'azote et stockés au froid.

On a fait les expériences dans une chambre environnementale (Controlled Environments, LTD, Winnipeg, Canada) divisée en cinq compartiments étanches à la lumière. On a disposé les lampes au-dessus de chaque compartiment et on a
25 réglé l'intensité de la lumière en ajustant la distance entre les lampes et les tissus. Ces derniers étaient maintenus à une température comprise entre 25 et 27°C, et étaient exposés séparément à une lumière à bande étroite de 9 longueurs d'onde comprises entre 371 nm et 740 nm (entre 0,01 mW/cm² et 2 mW/cm²), de façon continue chaque jour.

Les lampes fluorescentes à bande étroite présentant une crête pour l'une des longueurs d'onde suivantes: 371, 420, 448, 467, 504, 550, 590, 640 et 740 nm (lampes fournies par GTE Sylvania Lighting Products, Danvers, Ma., EUA) furent recouvertes (sauf la lampe présentant une crête à 371 nm) par un film polyester altérable de 0,13 mm d'épaisseur (Martin Processing Co., Martinville, Va., EUA). En outre, on a utilisé des filtres de plastique entourant les pré-filtres UV, de manière à absorber les lignes visibles de mercure hors de la région spectrale immédiate de l'émission à bande étroite. Les filtres et largeurs de bande utilisées pour chaque lampe sont bien connus. On a extrait l'anthocyane de tous les tissus au moyen de méthanol-HCl (99:1 en volumes). Les extraits furent filtrés, puis dilués dans chaque jeu de tissus avec du méthanol-HCl jusqu'à ce que le facteur d'absorption puisse être lu avec un spectro-photomètre à 530 nm et à 657 nm. On a utilisé la formule $A_{530} - 0,33A_{657}$ pour éliminer la contribution de la chlorophylle et de ses produits dégradés dans une solution acide jusqu'au facteur d'absorption à 530 nm.

3- Les résultats

On a mesuré les spectres actifs pour la formation de l'anthocyane avec des disques de peaux d'airelles et de pommes et de feuilles modifiées de poinsettias. On a fait les mesures du spectre actif pendant la période linéaire de la formation de l'anthocyane.

Les résultats significatifs obtenus avec plusieurs expériences spectrales sont représentés Figure 1 qui met en évidence un spectre actif pour la formation de l'anthocyane dans chaque groupe de plantes.

On a incubé les disques dans une sucrose à 0,1 mole et sous une lumière de plusieurs longueurs d'onde. La formation de l'anthocyane est représentée en pointillés comme une fonction de la longueur d'onde de la lumière utilisée pour chaque incubation.

Chaque point de ce pointillé représente en moyenne 15 échantillons, chaque échantillon comportant 50 disques.

La peau d'airelle dans une sucrose à 0,1 mole et sous une lumière de plusieurs longueurs d'onde montre deux crêtes distinctes de biosynthèse de l'anthocyane, une crête basse à 448 nm et une crête élevée à 660 nm. Le spectre actif pour la formation de l'anthocyane dans la feuille de poinsettie et la peau de la pomme est pratiquement identique à celui de l'airelle. La lumière la plus active de la lumière pour la formation de l'anthocyane dans la pomme était une lumière bleue présentant une crête d'émission à 448 nm.

La sensibilité spectrale de la formation de l'anthocyane dans les espèces de plantes choisies exposées à une lumière continue bleue ou rouge dépend de l'éclairement énergétique et de la durée de l'exposition. Dans les disques de peaux de pommes et d'airelle, la synthèse de l'anthocyane a été complètement saturée avec un éclairement énergétique de 0,82 mW/cm² sous une lumière bleue, et de 1,19 mW/cm² sous une lumière rouge (voir Figure 2). La Figure 2 montre l'effet de l'intensité de la lumière sur la formation de l'anthocyane dans des disques d'airelle (C) et de pomme (A). Les disques prélevés de la peau des fruits furent aussitôt transférés dans l'incubateur et soumis à un rayonnement rouge (1) et bleu (2) sous plusieurs intensités pendant 114 heures. La valeur de chaque point est une moyenne de cinq expériences séparées effectuées trois fois \pm l'erreur statistique.

Dans les disques de feuilles de poinsettie, l'intensité de la lumière bleue requise pour saturer l'anthocyane fut identique à celle requise pour les disques de peaux de pommes. La saturation d'intensité de lumière rouge pour la formation de l'anthocyane, toutefois, fut presque un quart de celle requise pour les disques de peaux de pommes, comme indiqué Figure 3 qui illustre l'effet de l'intensité de la lumière sur la formation de l'anthocyane dans des disques de feuilles de poinsettie. Les disques prélevés sur les feuilles modifiées furent immédiatement transférés dans l'incubateur et exposés à un rayonnement rouge et bleu sous plusieurs intensités séparément pendant 120 heures.

La valeur de chaque point est une moyenne de cinq expériences séparées effectuées trois fois \pm l'erreur statistique.

05 En fonction du cours du temps de la synthèse de l'anthocyane sous un rayonnement saturant bleu et rouge dans les disques de feuilles de poinsettie, on constate une phase initiale de retard durant environ 12 heures pendant laquelle il n'y a pas pratiquement de synthèse de l'anthocyane.

La formation de l'anthocyane débute à la fin de cette phase de retard et atteint un état stable après 120 heures et 216 heures sous un rayonnement rouge et bleu, respectivement, comme représenté Figure 4 qui illustre la synthèse de
10 l'anthocyane dans les disques de feuilles de poinsetties en fonction du temps.

Les disques prélevés des feuilles modifiées de poinsettie furent immédiatement transférés dans l'incubateur et exposés à un rayonnement rouge (660 nm; 0,30 mW/cm²) et bleu (448 nm; 0,82 mW/cm²) séparément au moment initial, puis récoltés aux moments indiqués pour estimer la quantité d'anthocyane. La valeur
15 de chaque point est une moyenne de cinq expériences différentes effectuées trois fois \pm l'erreur statistique.

Dans les disques de peaux de pommes, la synthèse de l'anthocyane présente une phase initiale de retard durant 24 heures environ et atteint un état stable après 144 heures et 196 heures environ sous un rayonnement saturant bleu et
20 rouge, respectivement, comme indiqué Figure 5 qui présente l'évolution dans le temps de la synthèse de l'anthocyane dans les disques de pommes. Les disques prélevés de la peau du fruit furent immédiatement transférés à l'incubateur et soumis séparément à un rayonnement bleu (448 nm; 0,82 mW/cm²) et rouge (660 nm; 1,19 mW/cm²) au moment initial et récoltés aux moments indiqués pour estimer la
25 quantité d'anthocyane. La valeur de chaque point est une moyenne de cinq expériences différentes effectuées trois fois \pm l'erreur statistique.

Puisque le spectre actif dans la formation de l'anthocyane dans la pomme et la poinsettie présente une crête pour une lumière de longueur d'onde 448 nm et 660 nm environ, les rôles relatifs de ces longueurs d'onde dans la synthèse de l'anthocyane furent examinés. Le Tableau 1 montre les effets interactifs du rayonnement bleu et du rayonnement rouge dans la synthèse de l'anthocyane dans la pomme. Les disques de peaux de pommes exposés à un rayonnement bleu continu avec une intensité lumineuse saturante formèrent plus d'anthocyane qu'exposés à un rayonnement rouge continu.

La lumière bleue continue, cependant, lorsqu'elle est appliquée simultanément à un rayonnement rouge continu, donne environ 36% en plus d'anthocyane qu'un rayonnement continu bleu seul. On constate un résultat similaire avec un rayonnement bleu continu appliqué avec un faible flux de rayonnement rouge pendant la durée du rayonnement. Ces résultats montrent que la lumière rouge sert de gâchette au rayonnement bleu agissant par "action à éclaircissement énergétique élevé" plutôt que l'inverse, car les impulsions de lumière bleue superposées à un rayonnement continu rouge n'apporte pas les mêmes effets.

TABLEAU 1

EFFETS DES TRAITEMENTS PAR LUMIERE ROUGE (660 nm) ET BLEUE (448 nm)
 POUR LA FORMATION DE L'ANTHOCYANE
 DANS DES DISQUES DE PEAUX DE POMMES (McIntosh)

05	Traitement	Quantité d'anthocyane *	
		(A ₅₃₀ -0,33A ₆₅₇)	
		72 heures	144 heures
	Rouge continu (1,19 mW/cm ²)	0,054±0,003	0,126±0,006
	Bleu continu (0,82 mW/cm ²)	0,088±0,004	0,197±0,011
10	Rouge continu et bleu continu (mêmes valeurs)	0,118±0,005	0,269±0,012
	Rouge continu et 10 mn de bleu toutes les quatre heures (mêmes valeurs)	0,056±0,002	0,163±0,006
	Bleu continu et 10 mn de rouge toutes les quatre heures (mêmes valeurs)	0,0112±0,006	0,264±0,013
15	* Les valeurs sont les moyennes de cinq expériences différentes effectuées trois fois ± l'erreur statistique.		

L'interaction de deux longueurs d'onde pour la formation de l'anthocyane dans les disques de feuilles de poinsettie est sensiblement différente. Comme représenté Tableau 2, la région à bande étroite obtenant le meilleur résultat est une lumière rouge présentant une crête à 660 nm. On constate alors une augmentation de plus de 60% dans la formation d'anthocyane dans les disques de feuilles, lorsqu'un rayonnement bleu continu est ajouté à la lumière rouge continue. Avec des rayonnements bleus de courtes durées ajoutés à un rayonnement rouge continu, on obtient un résultat identique à celui obtenu avec un rayonnement continu bleu plus rouge.

TABLEAU 2

EFFETS DES TRAITEMENTS PAR LUMIERE ROUGE (660 nm) et BLEUE (448 nm)
 POUR LA FORMATION DE L'ANTHOCYANE
 DANS DES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIES

05	Traitement	Quantité d'anthocyane*	
		(A ₅₃₀ -0,33A ₆₅₇)	
		60 heures	120 heures
	Rouge continu (0,30 mW/cm ²)	0,119±0,006	0,262±0,012
	Bleu continu (0,82 mW/cm ²)	0,065±0,004	0,154±0,009
10	Bleu et rouge continus (mêmes valeurs)	0,187±0,012	0,422±0,025
	Rouge continu et 10 mn de bleu toutes les quatre heures (mêmes valeurs)	0,166±0,011	0,410±0,028
	Bleu continu et 10 mn de rouge toutes les quatre heures (mêmes valeurs)	0,088±0,006	0,186±0,010
15	* Les valeurs sont les moyennes de cinq expériences différentes effectuées trois fois ± l'erreur statistique.		

La différence dans un mode d'action de lumière rouge et de lumière bleue pour l'anthocyane semble être liée à la stabilité du photorécepteur, peut-être phytochrome. Dans les disques de pommes, le photorécepteur semble être relativement instable, parce que de brèves expositions à un rayonnement rouge ont été requis pendant la période de rayonnement bleu. Le rayonnement rouge seul active le phytochrome nécessaire à la "réaction à éclaircissement énergétique élevée" au bleu et rend en même temps possible cette réaction à un faible niveau de rendement.

Pour les disques de poinsettias, l'effet du rayonnement bleu sur la formation de l'anthocyane, délivre sans doute certains précurseurs nécessaires à la formation de l'anthocyane. On croit que le rayonnement bleu réduit le niveau de certains inhibiteurs spécifiques qui intervient avec un lyase-ammoniaque phénylalanine qui est un enzyme-clé impliqué dans la biosynthèse de l'anthocyane.

Des critères bien établis devraient être satisfaits, cependant, avant de dire que le phytochrome est impliqué dans le système de la plante. Ces critères pour la formation de l'anthocyane sont donnés Tableau 3.

TABLEAU 3

EFFET D'UNE BREVE EXPOSITION AU ROUGE ET AU ROUGE PROFOND
POUR LA FORMATION DE L'ANTHOCYANE
DANS DES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIES

	Traitement	Quantité d'anthocyane *
15		(A ₅₃₀ -0,33A ₆₅₇)
	Test noir	0,001
	10 mn de rouge par jour	0,024
	10 mn de rouge profond par jour	0,001
	10 mn de rouge + rouge profond par jour	0,001
20	10 mn de rouge profond + rouge par jour	0,023

* On a extrait l'anthocyane cinq jours après le premier rayonnement.
Les expériences habituelles induction-substitution montrent que le phytochrome est impliqué dans la formation de l'anthocyane au moyen de la lumière dans les feuilles de poinsettias.
Les valeurs sont les moyennes de huit expériences différentes effectuées trois fois.

La formation de l'anthocyane se produit par une brève exposition de 10 mn à la lumière rouge chaque jour et cet effet fut totalement neutralisé par une exposition suivant immédiatement la première pendant 10 mn à une lumière rouge profond. L'induction par un traitement unique, bref, et à faible éclaircissement énergétique, et une réaction réversible rouge/rouge profond montrent à l'évidence que le phytochrome est au moins l'un des photorécepteurs impliqués dans la formation de l'anthocyane.

Comme indiqué Tableau 4, par des échanges réciproques d'éclaircissement énergétique et de durée d'éclaircissement énergétique, on démontre que la formation de l'anthocyane dans les disques de poinsettias obéit à une relation de réciprocité et que cette réponse est une fonction de la dose (I.t) plutôt que de l'éclaircissement énergétique seul. La validité de la relation de réciprocité montre que seul un photorécepteur est impliqué dans la photo-commande de la synthèse de l'anthocyane.

TABLEAU 4

RELATION ENTRE L'ECLAIREMENT ENERGETIQUE ET LE TEMPS REQUIS
POUR LA PHOTO-COMMANDE DE LA FORMATION DE L'ANTHOCYANE
DANS LES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIE

Après rayonnement

	240 heures	120 heures	60 heures
600	0,256±0,013	0,268±0,015	0,262±0,014
300	0,249±0,015	0,265±0,011	0,119±0,005
150	0,251±0,012	0,123±0,005	0,052±0,004

*Les valeurs dans les tirets représentent des doses de lumière égales (I.t=Constant, avec I = éclaircissement énergétique et t = le temps.

Les valeurs sont les moyennes de cinq différentes expériences effectuées trois fois ± err.stat.

La quantité d'anthocyane formée en réponse à un bref rayonnement est relativement faible et il faut, pour en obtenir un maximum, un long rayonnement à la lumière rouge (voir Tableau 5). On a identifié la première réponse comme étant une réaction phytochrome réversible à faible énergie rouge/rouge profond, tandis que l'on considère la dernière comme étant une réaction à énergie élevée, appelée aussi système de réaction à éclaircissement énergétique élevé photo-morpho-génèse de la plante. La dernière réponse suggère la dépendance de la durée d'exposition sur l'interaction phytochrome ou l'existence possible d'un second système photochimique à côté du phytochrome, en particulier la photosynthèse.

TABLEAU 5

EFFET DE LA DUREE D'EXPOSITION A LA LUMIERE ROUGE
POUR LA FORMATION D'ANTHOCYANE
DANS LES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIE

15	Traitement	Quantité d'anthocyane*
		(A ₅₃₀ -0,33A ₆₅₇)
	10 mn de rouge/Jour** (660 nm; 0,30 mW/cm ²)	0,024±0,001
	120 heures de rouge (mêmes valeurs)	0,265±0,010

* Les valeurs sont les moyennes de huit expériences différentes effectuées trois fois ± err.stat.

20 ** On a extrait l'anthocyane cinq jours après le premier traitement au rayonnement.

De façon à déterminer si la photosynthèse contribue à la réponse HIR par lumière rouge pour l'amélioration de la formation de l'anthocyane dans les disques de poinsetties, on a fait des études en utilisant plusieurs inhibiteurs de la photo-phosphorylation photosynthétique et de la synthèse de la chlorophylle.

Le Tableau 6 montre l'effet des inhibiteurs photosynthétiques cycliques et non-cycliques dans la synthèse de l'anthocyane. On a incubé des disques de feuilles de poinsettie avec quatre inhibiteurs séparément pendant une durée déterminée avec une lumière de 660 nm. Aucun des inhibiteurs, tels que 3-(3,4-dichlorophényle)-1, l'urée dyméthyle (DCMU), le sulfate d'ammoniaque $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ de la photo-phosphorylation non-cyclique, ainsi que le dinitrophénol (DNP) et l'antimycine-A (ANT-A) n'arrêtèrent la formation de l'anthocyane par la lumière.

TABLEAU 6

EFFET DES INHIBITEURS PHOTOSYNTHETIQUES
SUR LA FORMATION DE L'ANTHOCYANE
DANS DES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIE

15	Traitement	Quantité d'anthocyane ($A_{530} - 0,33A_{657}$)			
		DCMU	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	DNP	ANT-A
	0	0,268 ^a	0,261 ^a	0,249 ^a	0,253 ^a
	10^{-5}	0,261 ^a	0,267 ^a	0,256 ^a	0,254 ^a
	10^{-3}	0,264 ^a	0,259 ^a	0,252 ^a	0,249 ^a

On a exposé les disques à une lumière rouge de 660 m ($0,30 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) pendant cinq jours.

20 Les tests de contrôle étaient gardés dans une solution de sucrose à 0,1 molé.

Les valeurs sont les moyennes de cinq expériences différentes effectuées trois fois.

Les moyennes suivies par une postface identique dans chaque colonne ne sont pas très différentes pour les valeurs d'anthocyane $p \leq 0,05$.

De même, la streptomycine (STM) et le chloroamphénicol (CHP), qui sont des inhibiteurs du développement du chloroplaste et de la chlorophylle, avec deux concentrations différentes (10 ppm et 100 ppm), n'ont aucun effet sur la synthèse de l'anthocyane (Tableau 7).

TABLEAU 7

ACTION DES ANTIBIOTIQUES STM ET CHP SUR LA SYNTHÈSE DE L'ANTHOCYANE
DANS DES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIE

Concentration (ppm)	Quantité d'anthocyane*	
	(A ₅₃₀ -0,33A ₆₅₇)	
	STP	CHP
0	0,265 ^a	0,258 ^a
10	0,259 ^a	0,267 ^a
100	0,268 ^a	0,252 ^a

* On a exposé les disques à une lumière rouge de 660 nm (0,30 mW/cm²) pendant cinq jours,

les disques de contrôle étant incubés dans une solution de sucrose à 0,1 mole.

Les valeurs sont les moyennes de cinq expériences différentes effectuées trois fois.

Les moyennes suivies d'une postface identique dans chaque colonne ne sont pas très différentes pour les valeurs d'anthocyane p < 0,05.

Les caractéristiques de base de la réponse phytochrome, telles que l'efficacité relative des différents niveaux de rayonnement, la réversibilité rouge/rouge profond, et la validité des relations de réciprocité de la réponse, ne sont pas affectées par les antibiotiques.

Les rapports des niveaux d'anthocyane obtenue après 10 minutes de rouge et dix minutes de rouge/10 minutes de rouge profond sont identiques dans l'incubateur contenant les inhibiteurs, comme on peut le constater par rapport aux tests de contrôle du Tableau 8. Ceci montre que la photosynthèse ne joue aucun rôle dans la formation de l'anthocyane au moyen de lumière rouge, et que l'effet de rayonnement rouge sur la synthèse de l'anthocyane et le développement photosynthétique sont indépendants l'un de l'autre.

TABLEAU 8

INFLUENCE DE LA STM ET DU CHP SUR LA REVERSIBILITE ROUGE/ROUGE PROFOND
POUR LA FORMATION DE L'ANTHOCYANE
DANS DES DISQUES DE FEUILLES DE POINSETTIE

Traitement		Quantité d'anthocyane*		
		(A ₅₃₀ -0,33A ₆₅₇)		
		contrôle	STP	CHP
		(sucrose 0,1) (100 ppm)		(100 ppm)
15	Contrôle noir	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
	10 mn/jour rouge	0,024 ^b	0,025 ^b	0,024 ^b
	10 mn/jour rouge profond	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
	10 mn rouge + 10 mn rouge profond /jour	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
20	10 mn rouge profond + 10 mn rouge /jour	0,023 ^b	0,024 ^b	0,023 ^b

* On a extrait l'anthocyane cinq jours après le début du rayonnement.
Les valeurs sont les moyennes de trois expériences différentes effectuées trois fois.
Les moyennes suivies de postfaces non-identiques dans chaque colonne diffèrent de manière significative pour les valeurs d'anthocyane $p \leq 0,05$.

4- Discussion

Le spectre actif dans la formation de l'anthocyane dans des disques de peaux de pommes ou d'airelles et de feuilles de poinsettie présente deux crêtes, l'une dans le bleu et l'autre dans le rouge du spectre visible (Figure 1). La sensibilité spectrale et la dépendance de l'éclairement énergétique de la synthèse de l'anthocyane dans les tissus exposés à un rayonnement continu dépend de la durée du rayonnement (Figures 2 à 5). Ainsi, la synthèse de l'anthocyane est commandée par des réactions d'éclairement énergétique élevé, et agit par des interactions de phytochrome avec d'autres photorécepteurs HIR.

La lumière rouge est efficace pour stimuler la formation de l'anthocyane et cet effet est annulé lorsque la lumière rouge est suivie immédiatement par une lumière rouge profonde. Une telle réversibilité a été obtenue avec des brèves durées de lumière, ce qui montre clairement l'implication de phytochrome (Tableau 3).

15 Etudes sur le terrain

1- Les Pommes

a) Traitement par rupture de la nuit

Des pommes (de variétés "McIntosh" et "Red Delicious") sur les arbres, traitées à la lumière par rupture de la nuit (lampes à décharge à haute intensité et/ou lampes fluorescentes à bande étroite VHO: de 1 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ à 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, un quart d'heure par jour), pendant les 40 jours précédant la récolte, montre une amélioration dans la formation de l'anthocyane par rapport aux groupes de contrôle (non soumis au traitement).

En référence au Tableau I qui illustre l'effet du traitement par rupture de la nuit sur le développement des pommes de couleur rouge au moment de la récolte, on peut comparer les résultats pour plusieurs groupes dans l'Etat de Washington et en Californie (Etats Unis d'Amérique).

Il faut noter qu'en 1977, pour les arbres exposés au traitement de rupture de la nuit pendant les 30 jours précédant la récolte, la couleur rouge en pourcentage présenta un pourcentage de 78,3% contre 73,8% (une augmentation de 4,5%). En 1978, avec une exposition de 30 jours, le groupe illuminé présenta un
05 pourcentage par rapport au groupe de contrôle de 62,8% contre 53% (une augmentation de 9,8%).

Cette disparité dans les résultats annuels est due, en partie, au fait que deux saisons annuelles ne sont jamais identiques (température, humidité, précipitations, présence d'insectes, etc...).

10 On a appliqué une lumière comprenant un bleu continu et un rouge continu et présentant des crêtes d'émission à 448 nm et 660 nm environ, respectivement. Les pommes "Red Delicious" étaient cultivées à Wenatchee (Washington) en 1978 et à Linden (Californie) en 1979 et furent soumises au traitement pendant 45 jours, un quart d'heure par nuit; elles présentèrent, par rapport aux groupes
15 de contrôle, une amélioration de 9,2% et de 7% respectivement. Les tests furent répétés l'année suivante, avec une exposition durant 40 jours, et ils montrèrent une amélioration de 9,2% et de 12,5% respectivement.

Les effets du traitement par rupture de la nuit sur la pomme ("Red Delicious") de récolte aussi bien en taille qu'en qualité, en 1979 à Wenatchee (Washington)
20 sont représentés Tableau II ci-après. On comparera les groupes de contrôle aux pommes traitées à l'alar, et par traitement par rupture de la nuit avec deux différentes valeurs.

En particulier, les résultats montrent que le traitement par rupture de la nuit permet d'améliorer la couleur rouge en pourcentage par rapport aux groupes de
25 contrôle et aux groupes traités à l'alar. Les pourcentages en volumes globaux et en poids à sec des pommes démontrent également qu'il y a une amélioration.

TABLEAU I

EFFET DU TRAITEMENT PAR RUPTURE DE LA NUIT
SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA COULEUR ROUGE DES POMMES
AU MOMENT DE LA RECOLTE

Traitement	Couleur rouge en pourcentage					
	1977*	1978*	1978**	1979**	1979	1980
	"McIntosh" Massachusetts	"McIntosh" Massachusetts	"Red Delicious" Washington St.	"Red Delicious" Californie	"Red Delicious" Washington St.	"Red Delic." Californie
Contrôle	73,8	53	89	53	89	47,5
Illuminé	78,3	62,8	98,2	60	98,2	60

* Les arbres ont été soumis à un traitement par rupture de la nuit 30 jours avant la récolte des fruits.

** Les arbres ont été soumis à un traitement par rupture de la nuit 45 jours avant la récolte des fruits.

TABLEAU II

EFFETS DU TRAITEMENT PAR RUPTURE DE LA NUIT SUR LES POMMES
("Red Delicious") EN TAILLE ET QUALITE LORS DE LA RECOLTE
(Wenatchee, WA, Etats Unis d'Amérique)

Traitement	Taille*	Poids	Fermeté	Masse**		Poids	Poids	Masse %	Couleur
				chair (Kg)	soluble %	humide g	sec g	totale*** %	
Contrôle	72	183±3,98	9,23±0,06	10,33±0,13	10,37±0,02	1,26±0,01	11,99±0,14	89±1,2	
Alar-1200ppm	72	183,58±4,97	8,68±0,06	9,91±0,24	10,23±0,08	1,22±0,01	11,84±0,12	94,5±1	
18 µW/cm ²									
660 nm	72	192±3,43	9,1±0,06	10,59±0,14	10,31±0,04	1,39±0,02	13,5±0,15	99,3±1	
20 µW/cm ²									
660 nm	72	183,64±4,33	9,38±0,09	10,27±0,16	10,29±0,02	1,35±0,02	13,05±0,15	97±1	

* Le traitement a été effectué sur 72 fruits (18 fruits/arbre) choisis de même taille.

** La masse soluble n'est pas corrigée en température (période de récolte).

*** On a calculé la masse totale avec des fruits de même taille.

-20-

L'éthrel, qui est un régulateur chimique de la croissance généralement utilisé pour assurer la coloration rouge des pommes, ne permet d'obtenir que des pommes ayant de faibles caractéristiques de stockage. Par contre, les pommes soumises au traitement de rupture de la nuit avec des lumières bleue et rouge présentent d'excellentes qualités de stockage, comme indiqué Tableau III suivant:

TABLEAU III

EFFET DU TRAITEMENT PAR RUPTURE DE LA NUIT
SUR LA QUALITE DES POMMES ("Red Delicious") LORS DE LA RECOLTE
(Californie, 1980)

	Traitement	Couleur moy.	Fermeté moyenne	Masse moy.	Qualité de Stockage
		%		%	
	Contrôle	47,5	18,70	11,93	bonne
	Traité	60	18,79	11,58	bonne
15	Ethrel	50	17,04	13,77	faible
	Californie Standard		18 à 19	11 à 12	

Le traitement des pommes par rupture de la nuit (pour la variété "Red Delicious") avant la récolte présente de nombreux avantages par rapport aux groupes de contrôle non traité à la lumière. Les pommes traitées, comme on peut le voir Tableau IV, sont meilleures pour le consommateur (US Extra-Fancy ou Fancy), présentent un meilleur pourcentage de masse, sont plus lourdes, ont un meilleur pourcentage de rouge, et la croissance du tronc de l'arbre est améliorée.

-21-

TABLEAU IV

EFFET DU TRAITEMENT PAR RUPTURE DE LA NUIT
SUR LA QUALITE ET LA CROISSANCE DES POMMES AU MOMENT DE LA RECOLTE
(variété "Red Delicious", Californie, 1979)

Traitement	taille	détail des fruits % fermeté					masse %	poids (g)	longueur (cm)	couleur		croissance du tronc %
		consoa.	jus	rejet	autre(kg)					rouge %	(cm)	
Contrôle	144	46,89	26,89	4,16	22,1	7,42±0,13	13,70±0,25	148±5	6,95±0,09	53	7,44	
Traité	149	58,4	21,47	6,04	14,1	7,43±0,11	13,88±0,25	162±5	7,11±0,08	60	10,4	42

TABLEAU V

EFFETS COMPARÉS DU TRAITEMENT PAR RUPTURE DE LA NUIT ET DE ETHREL
SUR LA QUALITE DES POMMES DE RECOLTE
(variété "Red Delicious"; Californie, 1979)

Traitement	Fermeté (kg)	% de masse	couleur	qualité de stockage
			rouge en %	
Contrôle	7,42±0,13	13,70±0,25	53	bonne
Traité	7,43±0,11	13,88±0,25	60	bonne
Ethrel	5,63±0,18	15,88±0,97	55	mauvaise

L'ethrel (généralement utilisé pour la coloration rouge des pommes) a été vaporisé 2 semaines avant la récolte des fruits.

-22-

Les pommes traitées par rupture de la nuit gardent la même fermeté que les pommes tests, ont la même qualité de stockage, présentent un meilleur pourcentage de masse et un meilleur pourcentage de couleur rouge que les pommes tests. Par contre, les pommes traitées à l'éthrel sont moins fermes, ont un
 05 moindre pourcentage de masse, et présentent une mauvaise qualité de stockage, comme on peut le constater sur le Tableau V de la page précédente.

b) Lumière continue après la récolte

Le Tableau VI donne les pourcentages de couleur rouge des pommes "Red Delicious" (Californie, 1979) sous certaines conditions de contrôle et
 10 d'illumination.

Avant la récolte, les pommes traitées furent exposées 4 heures (entre 22 heures et 2 heures du matin) à une lumière rouge continue (crête à 660 nm) et une lumière bleue continue (crête à 448 nm) à 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ environ. Après la
 15 récolte, les pommes traitées ont été exposées de façon continue à une lumière de 660 nm (100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ environ) pendant 4 jours, alors qu'elles étaient conservées au froid.

TABLEAU VI

EFFET DU TRAITEMENT SUR LE DEVELOPPEMENT
 DE LA COULEUR ROUGE DES POMMES "Red Delicious"

Traitement	28 jours	35 jours	% de couleur rouge	
			récolte	Après récolte
			50 jours	4 jours au froid*
Contrôle	30	33	53	55
Traité	40	46	60	85

Le traitement commença le 3/7/79 et trois arbres furent traités.

* Après la récolte, les fruits furent conservés à 18°C.

2- Raisins

Du raisin (variété "Emperor") destiné à la fabrication du vin, a été traité par rupture de la nuit (lampes à décharge et lampes fluorescentes à bande étroite, entre $1 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ et $200 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) pendant un temps compris entre 1 heure et 4 heures par jour et ce pendant les 40 jours précédant la récolte. On a constaté des améliorations dans la formation de l'anthocyane par rapport au groupe test (non soumis au traitement), comme illustré Tableau VII.

La taille des fruits et leurs qualités (fermeté de la chair, masse, possibilité de stockage) au moment de la récolte n'avaient pas été affectées par le traitement par rupture de la nuit. De même, la croissance de la pousse et le développement du fruit étaient normaux.

TABLEAU VII

EFFET DU TRAITEMENT SUR L'ACCUMULATION DE SUCRE
ET SUR LA FORMATION D'ANTHOCYANE
DANS LES RAISINS "Emperor"

Traitement	% de sucre moyen	Intensité d'anthocyane
Contrôle	14	+
Ethrel	15,2	++++-
Lumière rouge	15,9	+++
Lumière bleue	15,4	++
Lumière rouge et lumière bleue	15,8	+++
Lumière rouge et Ethrel	16,93	++++-
Lumière bleue et Ethrel	16,23	++++-
Lumière rouge et lumière bleue et Ethrel (deux semaines avant la récolte)	16,30	++++-
+ signifie de 10 à 20% de couleur rose des grains.		
++ signifie de 30 à 45% de couleur rose des grains.		
+++ signifie de 50 à 75% de couleur rose des grains.		
++++ signifie de 80 à 99% de couleur rose des grains.		
- signifie une coloration rouge brun douce des grains (non souhaitable commercialement).		

Conclusions

L'utilisation d'un système d'éclairage spécifique peut aider considérablement à améliorer la couleur des fruits et des plantes ornementales (que l'exposition soit effectuée en stockage, en serre ou sur le terrain) sans causer ni
05 phototoxicité ni d'effet opposé à la croissance normale et au développement des arbres.

En mettant en pratique l'invention, on obtient donc ce résultat. L'intégrité des caractéristiques de qualité de stockage des fruits peut être conservée, et il n'en résulte aucune pollution chimique. Les pommes prélevées d'un stock
10 conservé au froid peuvent être ainsi traitées à tout moment sans affaiblissement des couleurs.

Bien que seuls certains modes de réalisation de l'invention aient été décrits, il est évident que toute modification apportée par l'Homme de l'Art ne sortirait pas du cadre de la présente invention.

REVENDEICATIONS

- 1- Procédé pour favoriser la formation de l'anthocyane dans un produit choisi dans le groupe comprenant les fruits et les plantes caractérisé en ce que l'on expose le dit produit à un traitement combiné de lumière bleue et de lumière rouge.
- 05 2- Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le dit produit est choisi dans le groupe comprenant les pommes, les raisins, les airelles et les poinsettias.
- 10 3- Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce que le dit groupe comprend les pommes "Red Delicious", les pommes "McIntosh" *Malus domestica*, les raisins "Emperor", les airelles *Vaccinium macrocarpon* AIT, et les poinsettias *Euphorbia pulcherrima* V-14.
- 4- Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le dit produit est traité par rupture de la nuit pendant un nombre de jours déterminé avant la récolte.
- 15 5- Procédé selon la revendication 4 caractérisé en ce que le dit produit est traité pendant les 40 jours précédant la récolte.
- 6- Procédé selon la revendication 4 caractérisé en ce que le traitement est effectué au moyen de lampes choisies dans le groupe des lampes à décharge à haute intensité et les lampes fluorescentes, avec une intensité de 1 à 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ pendant un temps compris entre 1 et 4 heures par jour.
- 20 7- Procédé pour favoriser la formation de l'anthocyane dans un produit choisi dans le groupe comprenant les pommes "Red Delicious", les pommes "McIntosh", les airelles, les raisins "Emperor", et les poinsettias, caractérisé en ce que l'on expose le dit produit à un traitement combiné de lumière bleue et de lumière rouge présentant des crêtes d'émission centrées sur 448 et 660 nm
- 25 environ respectivement, à différents intervalles de temps, avant la récolte.

8- Procédé pour favoriser la formation de l'anthocyane dans les pommes qui ont été récoltées, caractérisé en ce que l'on expose de façon continue les dites pommes, alors que celles-ci sont conservées au froid, à une lumière rouge présentant une crête d'émission centrée sur 660 nm environ.

05 9- procédé selon la revendication 8 caractérisé en ce que les dites pommes sont exposées de façon continue pendant quatre jours.

